

jocineuby@yahoo.com.br

Palavras Chaves: Indutor de necrose, elicitor,
vassoura-de-bruxa e *Crinipellis pernicios*Macêdo, JNA¹; Cabrera, OG²; Bittencourt, LM¹; Micheli, F³; Gesteira, AS¹; Pereira, GAG²; Cascardo, JCM¹¹Depto Ciências Biológicas, UESC- Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus-BA; ²Depto de Genética e Evolução, Instituto de Biologia, UNICAMP, Campinas-SP. ³CIRAD, Montpellier-França.

Caracterização funcional dos indutores de necrose de *Crinipellis pernicios* em *Theobroma cacao* L. e *Nicotiana tabacum* L.

A cacauicultura representava a principal fonte econômica da região Sul da Bahia, antes da chegada da vassoura-de-bruxa, em 1989. O *Crinipellis pernicios* (Stahel) Singer, agente causador da vassoura-de-bruxa, é um fungo hemibiotrófico que provoca diversos sintomas no cacaueiro sendo o mais característico, o super brotamento, conhecido como vassoura-de-bruxa (Purdy, L.H., Schmidt, R.A., 1996). Vários trabalhos têm sido realizados na tentativa de controlar a doença dentre eles, a busca de cultivares resistentes (Dias, L.A.S., 2001). Uma alternativa para a elaboração de novas estratégias para o controle da vassoura-de-bruxa é o estudo molecular da interação *C. pernicios*/*Theobroma cacao* L.. A aplicação de estudos genômicos viabilizou a identificação de genes envolvidos neste patossistema. Duas seqüências foram identificadas a partir da análise do banco de dados da biblioteca do projeto genoma do *C. pernicios* e de uma biblioteca da interação *C. pernicios*/*T. cacao* (var. 'Catongo') que foram denominadas NIPCPI e NIPCPII, respectivamente. Estas seqüências apresentaram similaridade com indutores de necrose de *Phytophthora* spp., *Pythium aphanidermatum*, *Fusarium oxysporum*, *Bacillus Halodurans*, dentre outros. As seqüências de aminoácidos deduzidas de NIPCPI e NIPCPII possuem regiões conservadas entre os indutores de necrose, além da presença de possíveis sítios de glicosilação e de fosforilação e a presença de um peptídeo sinal na região amino terminal, sugerindo a secreção da proteína durante o processo de infecção do cacaueiro. NIPCPI e NIPCPII possuem 89,17% de identidade de seqüência, sendo a maior divergência observada na região correspondente ao peptídeo sinal. A análise da expressão por RT-PCR desses genes em meristemas de plantas de cacau infectadas com *C. pernicios* confirma a presença das proteínas durante os diferentes estágios da doença. A expressão heteróloga em *E. coli* de NIPCPI e NIPCPII fundidas a uma cauda de histidina permitiu a purificação das proteínas tanto sob condição nativa quanto sob condição desnaturante. Sintomas de necrose foram observados 24 horas após a infiltração das proteínas heterólogas em meristemas de *T. cacao* (var. 'Catongo' e 'TSH 1188') e em folhas de tabaco (*Nicotiana tabacum* L.), os sintomas tornaram-se mais característicos após 48 horas. Visto que a proteína heteróloga foi ativa, esse fato demonstra que a glicosilação não é necessária para sua função. A presença de transcritos dos genes dos indutores de necrose em meristemas de *T. cacao* infectados e a funcionalidade das proteínas heterólogas NIPCPI e NIPCPII em cacau e tabaco sugerem sua participação no processo de desenvolvimento da vassoura-de-bruxa. Os resultados aqui apresentados correspondem ao primeiro relato de uma proteína indutora de necrose em um fungo basidiomiceto. Estudos estão sendo realizados para analisar a participação de NIPCPI e NIPCPII no processo de morte celular já caracterizado na interação *C. pernicios*/*T. cacao* (Ceita, G.O., 2004). ■

Apoio financeiro: Capes, CNPq, FAPESB e BNB.